

ELIMINACIÓN DE HUEVOS DE *SCHISTOSOMA MANSONI* POR *CEBUS APELLA MACROCEPHALUS* INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE

C. EDGARDO BORDA (1), J. PELLEGRINO (2) y H. D. MESCHESI (3)

RESUMEN

Fueron infectados experimentalmente con *Schistosoma mansoni* 14 monos pertenecientes a la especie *Cebus apella macrocephalus* Spix, 1823. Todos los animales se infectaron, eliminando en las heces huevos del trematode, los que eran viables y sus miracidios resultaron altamente infectivos para la *Biomphalaria glabrata*, obteniéndose un índice de infección de 89%. Se observó que tanto la presencia como el número de huevos por gramo de heces era variable y que además ciertos exámenes fecales resultaron negativos. Sometidos tales datos al test de χ^2 y al coeficiente de homogeneidad, se comprobó que los resultados obtenidos fueron heterogéneos. El grado de variación, particularmente amplio en el grupo de monos empleados, permitió observar diferencias estadísticamente significativas entre los valores mínimos y máximos en la eliminación de huevos por gramo de heces.

INTRODUCCIÓN

La búsqueda de primates que dudieron servir como modelos experimentales en el estudio de la infección por *Schistosoma mansoni* en sus aspectos biológicos, anatómopatológicos y quimioterapéuticos, fue realizada por numerosos investigadores^{6, 10, 11, 14}.

En 1953 se emplean por primera vez monos sub-americanos del género *Cebus*, originarios de la Amazonia, en estudios sobre la susceptibilidad y patología de la infección experimental por *S. mansoni*⁴. Posteriormente, se los utilizan en experiencias de inmunopatología y quimioterapia^{3, 9, 15, 19}. El comportamiento del *Cebus*, en relación

a la infección esquistosómica, fue discordante en algunos aspectos. SADUN & col.¹⁷, lo encontraron similar al del género *Macaca*, excepto que la eliminación de huevos del trematode en las heces y la eclosión de los miracidios resultaba considerablemente menor y además no fueron infectivos para el huesped intermediario. SILVA & col.¹⁹, sin embargo, observaron abundante eliminación de huevos y sus miracidios resultaron infectivos para los vectores.

Habiéndose recientemente descrito una técnica eficiente y simple para detectar huevos de helmintos en las heces¹, juzgamos útil emplearla en un estudio más de-

Este trabajo fue realizado, en parte, con la ayuda económica de U.S. Army (Grant n.º DAHC 19-70-G-0028) y por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de la República Argentina.

Contribución número 19 del "Grupo Inter-Departamental de Estudios sobre Esquistosomose", Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Minas Gerais

- (1) Becario del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de la República Argentina
- (2) Instituto Nacional de Endemias Rurais y Instituto de Ciências Biológicas, Caixa Postal 1404, Belo Horizonte, Brasil
- (3) Professor titular de Estadística de la Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil

tallado de la evacuación de huevos de *S. mansoni* en los excrementos de *Cebus* inoculados en el laboratorio.

Además encontramos interesante verificar la viabilidad de los huevos evacuados en las heces, como también la infectividad de los miracidios para los moluscos vectores.

En el presente trabajo, se relatan los resultados de tales observaciones en 14 monos infectados experimentalmente por *S. mansoni*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Infección de los animales

Los primates identificados como *Cebus apella macrocephalus* Spix, 1823, procedían del estado de Goiás (Brasil). Aunque no tenían la misma edad, se seleccionaron a los ejemplares jóvenes y sanos.

Antes de la infección, ninguno de los animales evacuó en las heces huevos de *S. mansoni*, durante un período de observación de aproximadamente 2 meses.

Catorce monos se expusieron individualmente a 200 cercarias de *S. mansoni* (cepa L. E.), obtenidas de por lo menos 40 *Biomphalaria glabrata* infectadas, con la finalidad de asegurar un buen balance de gusanos machos y hembras. Los *Cebus* eran inmovilizados en decúbito dorsal y después de afeitados en la región abdominal e inguinal, dadas las cercarias, dejando al animal en el agua desclorada en que estaban suspendidas las cercarias, dejando al animal en esa posición aproximadamente unos 45 minutos. Con el mismo lote de cercarias y en número de 60 por animal, fueron expuestos percutáneamente 6 ratones albinos que se usaron como controles de la infección.

Examen cuantitativo de la eliminación de huevos

A partir de la sexta semana de exposición y durante 6 meses, se realizaron biseccionalmente análisis de los excrementos. Con tal fin, se limpiaba previamente la jaula de cada mono y se recogía la primera deposición que pesaba alrededor de 3 gramos.

Cada muestra era examinada por duplicado, efectuándose contajes cuantitativos por medio del frotis coproparasitológico espeso¹.

La viabilidad del huevo maduro, contenido en las heces de reciente emisión, fue comprobada observando al microscopio la presencia o ausencia de movimiento en las células flamígeras del miracidio.

La infectividad de la larva ciliada se verificó por medio de la exposición en masa de *B. glabrata*¹². Para tal fin las heces eran suspendidas en 250 ml de agua desclorada, se las licuaba durante 1 minuto en un homogeneizador y filtraba a través de un tamiz de plástico. El filtrado se dejaba en reposo 30 minutos en heladera y finalmente se vertía el sedimento directamente en acuarios que contenían un número determinado de *B. glabrata* (de 8 a 14 mm de diámetro).

El agua del acuario era mantenida a 28°C y convenientemente iluminada para favorecer la eclosión de los miracidios. De este modo se expusieron un total de 700 moluscos.

El examen de los caracoles se efectuó a los 30 y 50 días, colocándolos individualmente en pequeños frascos (40 x 25 mm) conteniendo 3 ml de agua y exponiéndolos a la luz para facilitar la emergencia de las cercarias.

RESULTADOS

Los 14 ejemplares de *Cebus* se infectaron con el *S. mansoni*, la comprobación parasitológica fue determinada por el hallazgo de huevos del trematode en las heces de cada uno de los animales, entre la sexta y octava semana después de la exposición, estando el período prepatente comprendido en torno de los 50 días.

CUADRO I

Infección en masa de la *Biomphalaria glabrata* (8-14 mm de diámetro), con miracidios de *Schistosoma mansoni*, obtenidos de heces de *Cebus* experimentalmente infectados

Caracoles expuestos	Caracoles examinados	No. de positivos	Porcentaje de positivos
700	500	445	89%

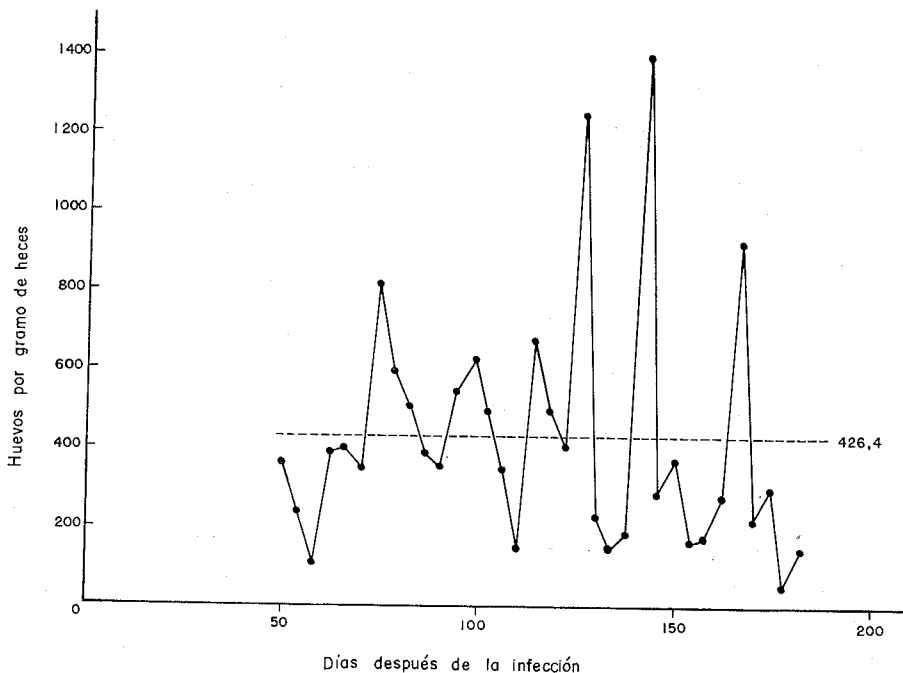


Gráfico I — Número medio de huevos de *S. mansoni* en la heces de 14 *Cebus apella macrocephalus* experimentalmente infectados

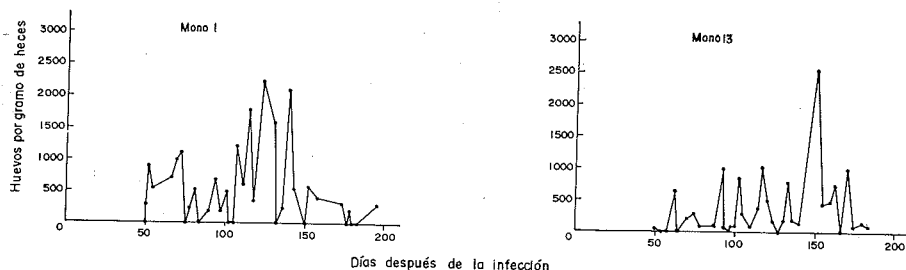


Gráfico II — Monos en cuyas heces se observaron menor ausencias de huevos de *S. mansoni*

La mayoría de los huevos eliminados en las heces eran viables y los miracidios resultaron altamente infectivos, obteniéndose un porcentaje de positividad de 89% en los caracoles sobrevivientes a la exposición (Cuadro I). Las cercarias de estos moluscos resultaron también infectivas para ratones albinos.

En todos los animales la presencia de huevos en las deyecciones ocurrió en mayor número entre los 100 y 150 días posteriores

a la infección observándose que después disminuía la evacuación de huevos. El número medio de éstos por gramo de heces fue de 426,4 (Gráfico I).

Analizados los primates individualmente, se observó que el número de huevos por gramo de heces era variable y que además en ciertos exámenes no se los detectaban en las heces (Gráficos I y II).

En el Cuadro II se puede observar que los valores obtenidos para el coeficiente de

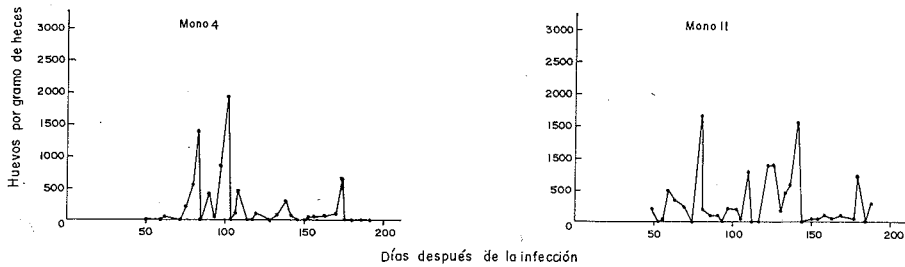


Gráfico III — Monos en cuyas heces se observaron mayor ausencias de huevos de *S. mansoni*

CUADRO II

Media, error standard y medidas de dispersión del número de huevos de *S. mansoni* por gramo de heces, en los 14 monos experimentalmente infectados

Animales	No. de muestras	Media \pm Error standard	Desviación standard	Coefficiente de variación
M-1	34	404,7 \pm 115,3	668,8	165,2
M-2	33	851,5 \pm 185,3	1056,0	124,0
M-3	34	807,7 \pm 444,1	2575,6	318,8
M-4	34	223,0 \pm 18,5	107,4	48,1
M-5	34	414,3 \pm 145,8	845,5	204,0
M-6	28	159,6 \pm 46,8	248,1	155,4
M-7	34	266,8 \pm 102,7	595,8	223,3
M-8	33	188,5 \pm 59,8	340,6	161,6
M-9	34	319,1 \pm 79,2	459,5	143,9
M-10	34	414,7 \pm 130,1	754,8	182,0
M-11	34	324,4 \pm 73,6	427,0	131,6
M-12	34	1209,9 \pm 406,4	2357,3	194,8
M-13	33	407,6 \pm 129,1	736,1	180,5
M-14	33	277,9 \pm 57,5	327,9	118,0

variación, están comprendidos entre 48,1% (M-4) y 318,0% (M-3) lo que demuestra la gran heterogeneidad de los resultados.

DISCUSIÓN

Los datos obtenidos en el presente estudio demuestran que el *Cebus apella macrocephalus* se comporta como un buen hospedador experimental del *S. mansoni*. Los gusanos alcanzan la madurez sexual y producen huevos que se eliminan en considerable número con las heces del animal. Los miracidios fueron altamente infectivos para los vectores. Además todos los monos aparecían con buena salud, aún durante el período de máxima eliminación de huevos y las heces se presentaban en general formadas.

La diferencia existente entre nuestras comprobaciones y la de SADUN & col.¹⁷, en lo referente al número de huevos y a la infectividad de los miracidios, podría estar relacionada con el origen del *S. mansoni* y con la temperatura del agua del acuario, que en nuestro caso se mantuvo constante durante el período prepatente.

Es sabido que en el hombre y en otros mamíferos como ser, monos diversos, ratón albino y hamsters infectados con *S. mansoni*, gran parte de los huevos puestos por la hembra del esquistosoma quedan retenidos en las paredes del intestino y en el hígado y aquellos que ganan acceso a la luz intestinal, aproximadamente 20% del total, son evacuados con las heces en un número variable^{2, 3, 5, 13, 16, 18, 20}. Teóricamente en-

tonces, debería encontrarse siempre huevos del gusano en las deposiciones, sin embargo, en todos los monos empleados en esta experiencia hubieron ciertos días en los cuales el examen fecal resultaba negativo. Verificaciones que concuerdan con las obtenidas por BRENER & ALVARENGA³.

Como la falta de huevos en las heces se observó en todos los animales, en unos más y en otros menos y tal hecho podría influir en las conclusiones de la investigación, para comprobar su importancia se aplicaron a los datos logrados varios test estadísticos.

Se denominó "presencia" a la detección y "ausencia" a la no detección de huevos en las heces, con el fin de verificar si existía una tendencia en los resultados. Se determinó el coeficiente de homogeneidad, obteniéndose H_t igual a 0,1. Esto demuestra que los resultados son heterogéneos en cuanto a la "presencias" y "ausencias" observadas.

El cálculo de χ^2 nos permitió obtener un valor numérico igual a 24,24 con G. L. igual a 13, (nivel de probabilidad de 5%), demostrándose de este modo que existe una diferencia significativa entre las "presencias" y "ausencias"^{6,21}.

Es indudable que en la eliminación de huevos en las heces, diversos factores deben haber influenciado. Tales factores podrían obedecer a causas de naturaleza exógena⁸ y endógena, está última relacionada con la respuesta individual de cada hospedador a la infección, con el número de esquistosomas, proporción entre los sexos y también con la biología del parásito. Así, si la frecuencia de la eliminación de los huevos a la luz intestinal se procesara con la misma regularidad y la distribución de los huevos en las heces fuera uniforme en todas las deposiciones del día, el examen de una única deposición sería representativa. Por otra parte, calculando el coeficiente de variación en exámenes de una misma muestra, nosotros hemos observado que existía uniformidad¹. No obstante, sería muy interesante realizar otras investigaciones en este campo, con la finalidad de verificar la real influencia de los factores mencionados en la eliminación diaria de huevos del *S. mansoni* en el total de heces.

SUMMARY

Excretion of Schistosoma mansoni eggs from Cebus monkeys experimentally infected

Fourteen *Cebus apella macrocephalus* Spix, 1823 were exposed to 200 cercariae of *Schistosoma mansoni* per animal. All monkeys excreted viable eggs with the feces. Miracidia proved highly infective to *Biomphalaria glabrata* (89% rate of infection).

The number of eggs per gram of feces has been determined at different intervals. A high fluctuation was observed in the number of excreted eggs, some results being negative.

Statistical analysis of the results showed a high level of variation, significant differences between the maximal and minimal values being observed.

REFERENCIAS

1. BORDA, C. E. & PELLEGRINO, J. — An improved stool thick-smear technique for quantitative diagnosis of *Schistosoma mansoni* infection. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 13:71-75, 1971.
2. BRENER, Z. — Observações sobre a infecção do camundongo pelo *Schistosoma mansoni*. *Rev. Brasil. Malariol.* 8:565-575, 1956.
3. BRENER, Z. & ALVARENGA, R. J. — Susceptibilidade do *Cebus apella macrocephalus* Spix, 1823 a infecções experimentais pelo *Schistosoma mansoni*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 4:180-186, 1962.
4. COELHO, B. & MAGALHÃES F.º, A. — Resultados patológicos da infestação experimental do *Schistosoma mansoni* em macacos do gênero *Cebus* sp. *Publ. Avulsas Inst. Aggeu Magalhães* 2:61-98, 1953.
5. FAUST, E. C.; JONES, C. A. & HOFFMAN, W. A. — Estudios sobre la Schistosomiasis de Manson en Puerto Rico. III — Estudio biológico 2. La etapa mamífera del ciclo vital. *Puerto Rico J. Publ. Hlth.* 10:197-254, 1934.
6. GUILFORD, J. P. — *Psychometric Methods*. 2th Edition. New York, McGraw Hill Book Company Inc., 1954.
7. JACHOWSKI, L. A.; ANDERSON, R. I. & SADUN, E. H. — Serological reactions to *Schistosoma mansoni*. I — Quantitative studies on experimentally infected monkeys (*Macaca mulatta*). *Amer. J. Hyg.* 77:137-145, 1963.

8. MACIEL, H. — A influência das forças cósmicas sobre a postura do *Schistosoma mansoni*. *Scientia Méd.* 4:588-594, 1926.
9. MAGALHÃES F.^o, A. — Reações de hipersensibilidade em macacos *Cebus* infectados com *Schistosoma mansoni*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 3:239-253, 1961.
10. MEISENHELDER, J. E.; OLSZEWSKI, B. & THOMPSON, P. E. — Observations on the therapeutic and prophylactic effects by homologous immune blood against *Schistosoma mansoni* in *Rhesus* monkeys. *J. Parasit.* 46:645-647, 1960.
11. MEISENHELDER, J. E. & THOMPSON, P. E. — Comparative observations on experimental *Schistosoma mansoni* infections in african green and *Rhesus* monkeys. *J. Parasit.* 49:567-570, 1963.
12. MOORE, D. V. — Efficacy of mass exposure of *Australorhis glabratus* to *Schistosoma mansoni*. *J. Parasit.* 50:798-799, 1964.
13. MOORE, D. V. & SANDGROUND, J. H. — The relative egg producing capacity of *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma japonicum*. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 5:831-840, 1956.
14. NAJARIAN, H. & THOMPSON, P. E. — Drug evaluation in experimental *Schistosoma mansoni* infections of *Rhesus* monkeys. *Proc. 6th Inter. Cong. Trop. Med. Mal.* 2:211-215, 1958.
15. PELLEGRINO, J.; KATZ, N. & RAICK, A. — Therapeutical activity of CIBA 32,644-Ba, a new nitrothiazole derivative, on mice, hamster and *Cebus* monkeys experimentally infected with *Schistosoma mansoni*. *Fóhla Méd.* 52:332-343, 1966.
16. PRATA, A. — *Biópsia retal na esquistosomose mansoni. Bases e aplicações no diagnóstico e tratamento.* Tese. Rio de Janeiro, S.N.E.S., 1957.
17. SADUN, E. H.; VON LICHTENBERG, F. & BRUCE, J. I. — Susceptibility and comparative pathology of ten species of primates exposed to infection with *Schistosoma mansoni*. *Amer. J. Trop. Med. & Hyg.* 15:703-718, 1966.
18. SADUN, E. H.; VON LICHTENBERG, F.; CHEEVER, A. W. & ERICKSON, D. G. — Schistosomiasis in the chimpanzee. The natural history of chronic infections after single and multiple exposures. *Amer. J. Trop. Med. & Hyg.* 19:258-277, 1970.
19. SILVA, L. C. da; BRITO, T. de; GUNJI, J.; CERAVOLO, A. L.; SHIMIZU, S. H.; LOPES, J. D. & SOUZA, L. M. — Follow-up studies of *Cebus apella* exposed to heavy infections with *Schistosoma mansoni*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 11:309-318, 1969.
20. VON LICHTENBERG, F.; SADUN, E. H. & BRUCE, J. I. — Tissue responses and mechanisms of resistance in schistosomiasis mansoni in abnormal hosts. *Amer. J. Trop. Med. & Hyg.* 11:347-356, 1962.
21. WALKER, H. M. & LEV, J. — *Statistical Inference.* New York, Henry Holt and Company, 1953.

Recebido para publicação em 2/8/1971.